云 南 植 物 研 究 1991; 13(2): 173—180
Acta Botanica Yunnanica
ISSN 0253-2700
CN 53-1039

不同季节中香荚兰叶片的光合作用特征

张能义* 李存信

（中国科学院昆明植物研究所，昆明650204）

摘要 通过对生长于人工阴蔽下香荚兰(*Vanilla planifolia*)不同部位叶片的气体交换、可滴定酸度和叶绿素含量等四个不同季节的观测，较为详细地研究了叶龄和光合作用类型之间的关系及其季节性的变化规律。成熟叶片在四个季节中表现为稳定的景天酸代谢(CAM)，且光期有较长时间的CO_2吸收，几乎无CO_2向外释放，有显著的昼夜酸度波动。幼叶以C_3代谢为主，但在较高昼夜温差和较低空气相对湿度的条件下也能进行CAM代谢，且不同季节中表现了不同程度的酸积累。我们认为，香荚兰叶片随叶龄的增长有一个从C_3代谢到CAM代谢的光合作用途径的转移，幼叶在对环境因子变动的反应中也有一个类似的转移现象。叶片的光合作用能力也表现了季节性的差异，尤其对温度反应敏感，低温季节（日均温<20℃），CO_2的固定作用大大减弱。

关键词 香荚兰；光合作用；C_3代谢；景天酸代谢；季节性变化

PHOTOSYNTHETIC PROPERTIES OF LEAVES IN VANILLA PLANIFOLIA AMONG DIFFERENT SEASONS

ZHANG Neng-Yi, LI Cun-Xin

(*Kunming Institute of Botany, Academia Sinica,* Kunming 650204)

Abstract Leaf gas exchange, titratable acidity and chlorophyll content were measured in *Vanilla planifolia* cultivated in artificial shading condition during four different seasons. The relationship between different leaf ages and photosynthetic types and seasonal variations were researched in detail. The mature leaves perform stable Crassulacean Acid Metabolism (CAM), which uptake and rarely release CO_2 for most times during the light period, and express marked diurnal acid fluctuation. The young leaves mainly carry on C_3-metbolism under the conditions of higher diurnal temperature diffences and lower air relative humidity, and express nocturnal acid accumulation for different levels among

1989年12月收稿，1990年2月定稿。

* 本所硕士研究生，现在云南省香料研究开发中心工作。

different seasons. We consider that the photosynthetic carbon metabolism ways of leaves in *Vanilla planifolia* shifts from C_3 to CAM along with leaf development. The young leaves also shift similarly in response to environmental perturbations. Leaf photosynthetic capacity shows seasonal variation, especially sensitive to temperature. CO_2 fixation is weakened greatly during the low temperature season (T<20℃).

Key words *Vanilla planifolia*; Photosynthesis; C_3-metabolism; Crassulacean acid metabolism; Seasonal variation

景天酸代谢（CAM）作为光合作用三大类型之一，只是在近几十年才受到植物学家们的广泛重视，其典型的特征为羧化和脱羧作用在时间上的隔离，满足了植物体在较低的水分消耗下获得碳收益，具有广泛的生态学意义。故而称之为“就范性代谢系统”[1]。研究其季节性特征实际上包含了多重因子的综合影响。

香荚兰（*Vanilla planifolia*）为一种热带多年生的林下藤本植物。由于它是经济价值很高的热带名贵香料，虽然原产墨西哥，但在马达加斯加，留尼旺等地均已有了很长的栽培历史。然而有关其生理学方面的研究报道却不多。McWilliam发现它是兰科植物中进行CAM代谢的进化种之一[2]。陈秀峰等[3]在对室内栽培的香荚兰光合作用特征研究中，也证实了其夜间的CO_2吸收现象。但是香荚兰光合作用随叶片个体发育的变化和环境条件的关系，迄今国内外均未见报道。我们试图通过气体交换和可滴定酸度等生理指标的观测，较为详细地研究不同叶龄的叶片在不同季节中的光合作用特征，并且探讨一些提高其生产力的措施。

材 料 和 方 法

实验材料选用景洪动物中心人工阴棚下定植4年的香荚兰，分别对3种不同部位的叶片（第3、4位叶，第6、7位叶和第9位以下叶）在四个季节：春季（3月）、夏季（7月），秋季（10月）和冬季（12月）里进行昼夜气体交换观测和叶片酸度滴定，观测的实验样本数为5—6片。

叶片的CO_2和H_2O交换速率采用美国拉哥仪器公司生产的LI-COR 6200型便携式光合作用测量装置于单叶水平测定。选用1/4升叶室，采用封闭式气流迴路，气流量调节以保障测定时叶室内空气水蒸汽压有较小的变动为准。每一观测页采气样3次，每10秒钟采一次气样。观测完毕输入叶面积，由系统自行运算，得净光合速率，蒸腾速率和气孔阻力等结果。昼夜观测的间隔时间为2—3小时。

叶面积类似于禾本科植物，即先输入叶面积乘数，每次观测后，只需输入叶室所夹上下两边的宽度之和，由系统自动计算出叶面积，再按系统方程运算结果。

可滴定酸度的测定，分别于黎明和黄昏或特定的间隔时间后采样，洗净、擦干、剪碎。称取10g鲜样。研碎，定溶至100ml，于60—70°C下水浴5分钟后，离心、过滤，滤液用0.01mol/l的NaOH溶液滴定至终点，选用酚酞作指示剂。叶片可滴定酸度表示为每

千克鲜叶中所含H^+的毫克当量数。

叶绿素含量的测定，采用N,N-二甲基甲酰胺(N,N-dimethlformamide)浸提[4]，在室温下存放5—6天，于岛津紫外分光光度计UV-260型上测定浸提液的光密度值，再按Inskeep和Bloom的公式[5]计算叶绿素含量。

结 果 与 讨 论

1.环境因子分析

图1（A、B、C、D）分别显示了四个季节中被测香荚兰生长环境中的温度和空气相对湿度。由于该环境为70%遮光网所覆盖，四个观测季内除雨季7月外，其余时间的光照强度差异不大，日平均光照为200—300$\mu Em^{-2}s^{-1}$。而温湿度则表现了显著的差异。其中日平均温度分别为：3月，24.50°C〔昼夜温差（ΔT）=5.49°C〕；7月，27.09°C（ΔT=3.68°C）；10月，23.25°C（ΔT=6.50°C）和12月，17.82°C（ΔT=4.53°C）。日平均相对湿度分别为：3月，61.15%；7月，80.98%；10月，68.61%和12月，70.80%。夜间空气相对湿度只是在干季3月表现为明显低的水平，其余三个季节中差异不甚显著。由于遮阴和配备了灌溉设施，生态园内土壤水分状况在实验期间基本保持稳定。

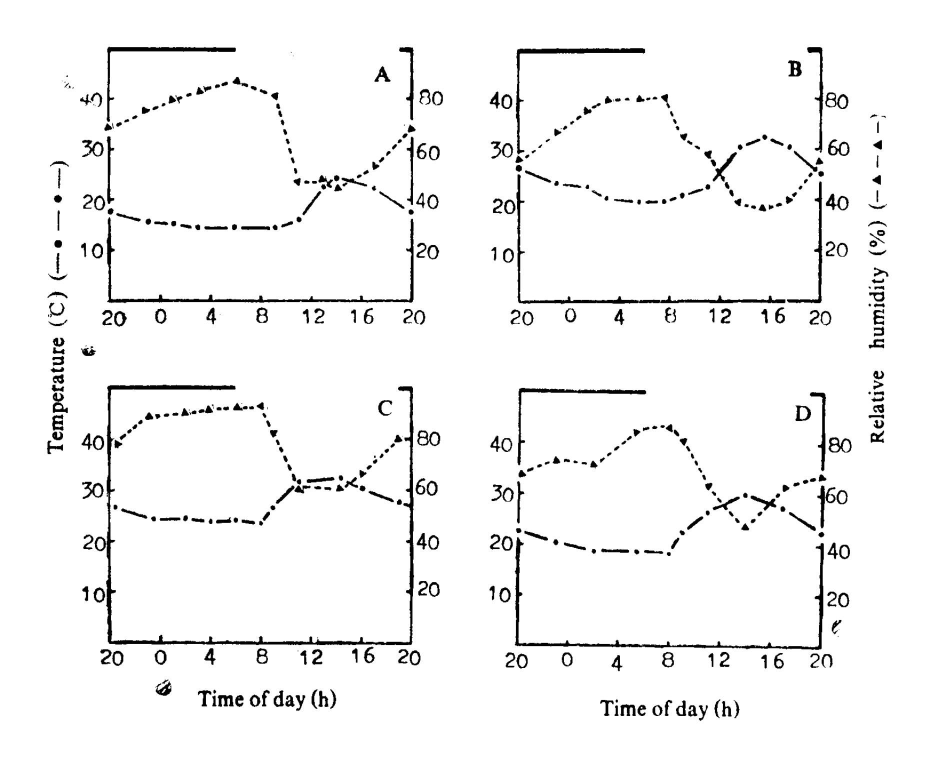
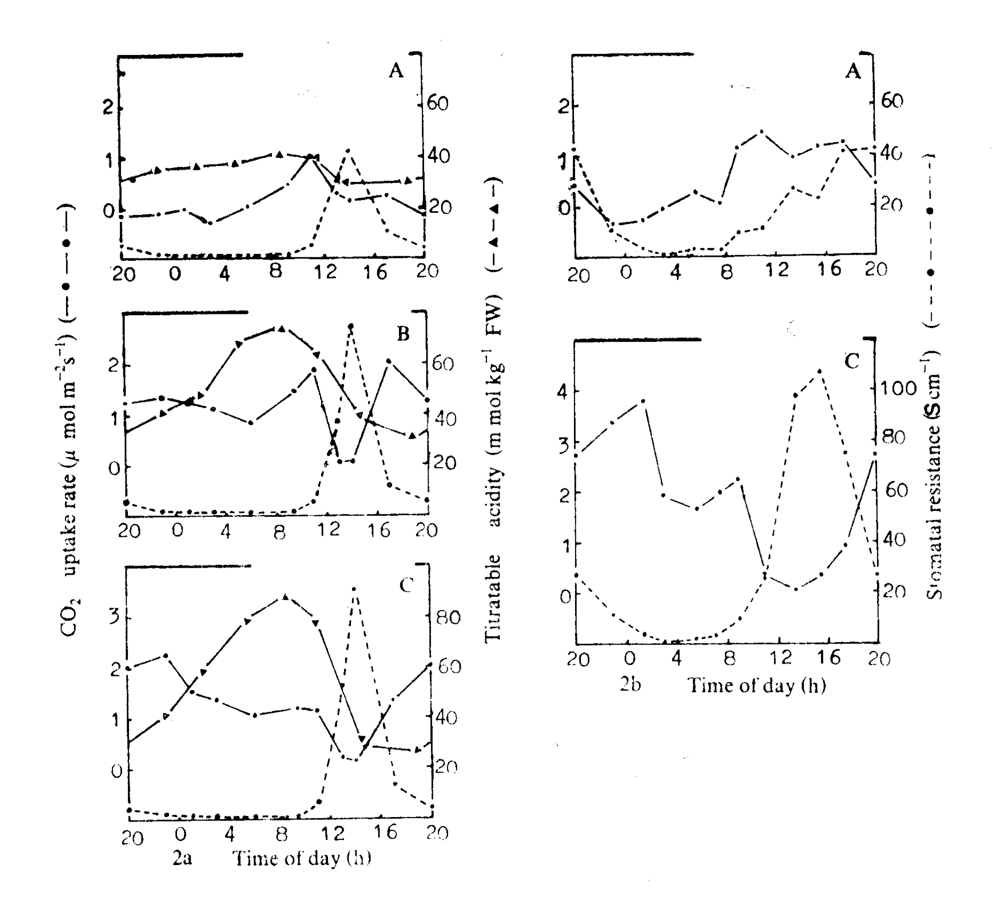


图1 四个观测季中，香荚兰生长环境的昼夜温度和空气相对湿度。A,B,C和D分别表示12月，3月，7月和10月。

Fig. 1 Diurnal temperature and air relative humidity in *Vanilla planifolia* growth environment among four seasons. A,B,C and D represent Dec.,Mar.,Jul.and Oct. respectively.



2.香荚兰叶片光合作用类型及其转移

三类叶片的形态学特征包括叶绿素含量的比较（表1）表明，随叶片的发育，其厚度增加，肉质化程度加深，叶绿素含量升高。尽管并非所有的CAM植物都是肉质植物，也并非所有的肉质植物都执行CAM型光合作用[6]，但是CAM代谢在肉质植物（或器官）中的广泛存在，说明了高容量的贮酸贮水组织对这种碳代谢途径是较为重要的[7]。

表1 三类叶片的形态学特征和叶绿素含量的比较*

Table 1 comparison of biological charactristics and chlorophyll contents among three kinds of leaves in *Vanilla planifolia*.

叶片 Leaf	厚度 Thickness (mm)	肉质度 Succulence (kg m^{-2})	含水量 Water content (%)	叶绿素含量 Chlorophyll content (mg dm^{-2}) Total	Chla	Chlb
1	1.57	1.31	95.50	2.77	2.03	0.74
2	1.88	1.48	94.42	4.45	3.29	1.16
3	1.93	1.53	90.78	7.07	5.03	2.04

* 表中叶片一栏中1，2和3分别代表幼叶，中间型叶和成熟叶，以下使用相同。

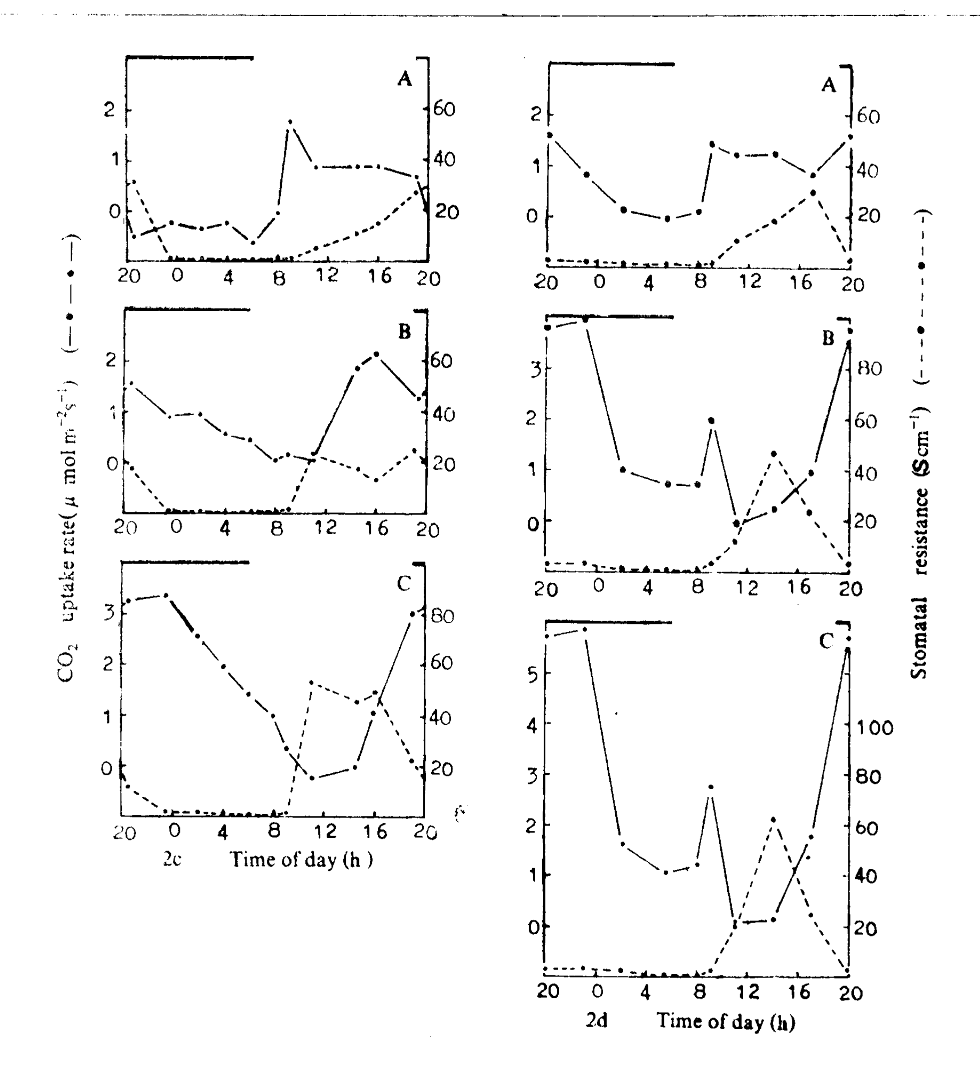


图 2　不同香荚兰叶片在不同季节中的CO_2吸收速率，气孔阻力和可滴定酸度的昼夜变化。

2a，2b，2c和2d分别表示十二月，三月，七月和十月。

A，B，C分别代表幼叶，中间型叶和成熟叶。

Fig. 2　Diurnal variation of CO_2 uptake rate, stomatal resistance and titratable acidity among different leaves in *Vanilla planifolia* in response to different seasons.

2a, 2b, 2c, and 2d represent Dec., Mar., Jul. and Oct. respectively.

A, B, and C represent young leaves, middle leaves nnd mature leaves repectively.

图2a表示的是12月份不同叶片的CO_2吸收速率，气孔阻力和可滴定酸度的昼夜变化。幼叶在光期表现出CO_2吸收，夜间则为CO_2的释放。但叶片可滴定酸度也呈现了微弱的昼夜波动，可见幼叶在该季节内主要表现为C_3光合作用，其昼夜酸度的改变可能是在于体内进行了一定程度的呼吸CO_2再固定，即CAM空转（CAM Idling）[8]。成熟叶片在一天内有很长时间的CO_2吸收，光下几乎无CO_2的向外释放，叶片酸度的昼夜变化明显，黎明时最高，黄昏时最低。中间型叶片在光期也有长时间的CO_2吸收，但其夜

间的CO_2吸收速率明显低于成熟叶片，其CO_2交换曲线既有类似于幼叶的早晨CO_2吸收峰，又有接近于成熟叶的傍晚吸收峰。三类叶片气孔阻力的昼夜变化极为相似，仅仅是随叶龄增长，气孔阻力增大，尤其是日中最大气孔阻力值的差异更为明显。

图2b反映了幼叶和成熟叶在干季3月的CO_2交换和气孔阻力。显然，幼叶仍为光下长时间的CO_2吸收，但在暗期的部分时间内也有很微弱的CO_2吸收，CO_2交换在光下有两个吸收峰。在3月的干季中，成熟叶片的CO_2交换在午夜和凌晨有两个吸收峰（主峰在午夜），而日中则为最大气孔阻力和接近于零的CO_2吸收，与典型的CAM气体交换型式相似[1]。雨季7月的结果（图2C）表明：幼叶的CO_2交换为光下吸收，暗期向外释放，且只有单一的早晨CO_2吸收峰。成熟叶片在该季内仍以夜间的CO_2吸收为主，但日中时刻，测到微弱的CO_2向外释放，CO_2吸收峰出现在午夜，早晨的CO_2吸收峰消失。中间型叶片亦无早晨的CO_2吸收峰，CO_2吸收速率在下午达最大。图2d显示了三类叶片在10月的观测结果，幼叶表现了明显的暗期CO_2吸收，其吸收强度比光期弱，气体交换有早晨和夜间的两个吸收峰。成熟叶与3月份观测结果相似，但CO_2吸收速率明显提高，尤其是夜间的CO_2吸收。中间型叶片CO_2交换与成熟叶片极为相似，仅在吸收速率上有差异。

表2 香荚兰三类叶片在不同季节中可滴定酸度的昼夜变化值（ΔH^+，m mol kg^{-1} FW），ΔH^+值为黎明和黄昏时叶片可滴定酸度的差值。

Table 2 Titratable acidity fluctuation in *Vanilla planifolia* among three kinds of leaves in response to different seasons. ΔH^+ was calculated from (dawn-dusk) values of titratable acidity (m mol kg^{-1} FW).

叶 片 Leaf	3 月 Mar.	7 月 Jul.	10 月 Oct.	12 月 Dec.
1	34.80	10.81	—	11.04
2	—	60.55	—	43.76
3	128.10	121.09	—	61.82

表2列出了三类叶片在不同季节中可滴定酸度的变化值（10月末测定）。无论是幼叶，中间型叶还是成熟叶，均表现了昼夜酸度的改变，且随叶龄的增长，酸度波动值增大。幼叶在无夜间CO_2吸收的情况下，仍表现了这种酸值的改变，说明了幼叶通过固定体内呼吸释放的CO_2进行了较低活性的CAM代谢。成熟叶显著的酸度改变，与其夜间较大速率的CO_2吸收是分不开的。

综上所述，幼叶在四个观测季内，明显地表现了光下CO_2吸收为主，在10月份有明显的夜间CO_2吸收，3月份夜间部分时间上也表现了微弱的CO_2吸收。成熟叶片无论在哪一观察季内均以暗期CO_2吸收为主，呈现稳定的CAM代谢。中间型叶片的CO_2交换尽管在三个季节内（3月未观测）都表现了夜间的CO_2吸收，但其气体交换型式既有幼叶的部分特征又有与成熟叶相似之处。所以香荚兰叶片随叶龄的增长，肉质化的加强，有一个以C_3代谢为主到稳定的CAM代谢的转移现象。这类由叶片的发育而诱导的碳代谢途径的转移已在凤梨科、番杏科和胡椒科等植物中报道过[9-13]。但目前对这类转移的

机制尚未有满意的解释。另外，幼叶在3月和10月的夜间也表现了CO_2的净吸收，尤其在昼夜温差最大的10月份表现最为明显。即幼叶在较低的空气相对湿度和较高的昼夜温差下也发生了从C_3代谢到CAM代谢的转移。这种由温湿度诱导的碳代谢途径的转移现象在菠萝[14]和西班牙藓[15]中被发现。

3.叶片光合作用能力及其季节性差异

表3列举了三类叶片在不同季节内光期、暗期和全日的CO_2吸收值。对于幼叶来说，光期CO_2吸收以3月和10月为高，12月最低，可见其进行C_3光合作用受温度影响较大，适宜温度为27°C左右。暗期仅在10月表现了净的CO_2吸收，其余3个季节中均为CO_2的呼吸释放，释放量以雨季7月最高，3月最低。这是由于7月夜温最高，而3月夜温高于冬季12月，其CO_2释放量最低是由于夜间部分时间上仍有微弱的CO_2吸收。从表2的酸度变化值上也可以证明这一点。

表3　香荚兰不同叶片在不同季节中的CO_2净吸收，吸收值以气体交换曲线中积分而得（毫摩尔/平方米）。

Table 3　Net CO_2 uptake in *Vanilla planifolia* among different leaves in response different seasons. Values were determined from integration of gas exchange curves (m mol/m^2).

季节 Season	叶片 Leaf	光期 Light period	暗期 Dark period	总和 Total
3月 Mar.	1	45.37	−0.01	45.36
	3	45.33	107.81	153.14
7月 Jul.	1	34.92	−11.70	23.22
	2	44.44	38.50	82.94
	3	34.08	107.45	141.53
10月 Oct.	1	45.25	25.09	70.34
	2	38.60	93.49	122.09
	3	59.44	140.57	200.01
12月 Dec.	1	14.62	−4.96	9.66
	2	54.45	48.17	102.62
	3	46.18	66.22	112.40

成熟叶片无论在哪一季节，均以夜间的CO_2吸收为主，光期CO_2吸收量以10月份最高，雨季7月最低，可见低光强和高温抑制了成熟叶片的C_3的CO_2固定作用。暗期CO_2吸收同样是10月份最高，12月暗期吸收最低，可见低温影响了CAM活性。中间型叶片也表现了不同的CAM活性，10月份CAM活性最高，7月和12月光期和暗期的CO_2吸收几乎相等。所以，从气体交换型式和吸收量上均反映了中间型叶片正是由以C_3代谢为主过渡到稳定的CAM代谢的中间类型。

三类叶片之间的CO_2同化能力存在着显著的差异（表3），说明了对于多年生的香荚兰来说，较老叶片的光合作用对植株生长发育的贡献显然占据了很重要的地位，这也是香荚兰营养体具有10—15年寿命[16]的一个重要原因。而且在低温季，无论是幼叶，中间叶还是成熟叶，均表现了极低的CO_2吸收速率，实际上，此时香荚兰的营养生长正处于停滞期。这一光合作用特征使香荚兰大面积野外栽培有了环境上的局限性。香荚兰原

生于高温多湿的热带雨林环境；从本实验中也可看出，其光合作用受空气相对湿度的影响较为明显。雨季7月的空气湿度最高，但由于正值高温期，CO_2同化又受影响。3月温度进入适宜期，但空气湿度最低。如果在这段时期内，进行人工喷灌，保证香荚兰生长环境中有足够量的空气水分，可望获得类似于10月份的较高的CO_2同化速率。

参 考 文 献

1 Osmond C B. *Annu Rev Plant Physiol* 1978; 29: 379—414
2 McWilliams E L. *Bot Gaz* 1970; 131: 295—290
3 陈秀峰，郑国基. 亚热带植物通讯 1988; 2: 12—15
4 Moran R, Porath D. *Plant Physiol* 1980; 65: 478—487
5 Inskeep W P, Bloom P R. *Plant Physiol* 1985; 77: 483—485
6 Gibson A C. In Crassulacean acid metbolism. Maryland: Waverly Press, 1982: 1—17
7 Ting I P, Gibbs M. Crassulacean acid metbolism. Maryland: Waverly Press, 1982: v-vi
8 Szarek S R, Johnson H B, Ting I P. *Plant Physiol* 1973; 52: 539—541
9 Holthe P A, Szarek S R. *Plant Physiol* 1985; 79: 219—224
10 Jones M B. *Planta* 1975; 123: 91—96
11 Kojiro N. *Plant Cell Physiol* 1978; 19: 935—941
12 Sipes D L, Ting I P. *Plant Physiol* 1985; 77: 59—63
13 Von Willert D J, Kirst G O, Treichri S et al. *Plant Sci Lett* 1976; 7: 341—346
14 Bartholomew D. In Crassulacean acid metbolism. Maryland: Waverly Press, 1982: 278—294
15 Martin C E, Siedow J N. *Plant Physiol* 1981; 68: 335—339
16 森 博隆. 香料 1981; 130: 107—111